

Opponensi vélemény Dr. Nagy Nikoletta „Genotípus-fenotípus összefüggések feltárása, funkcionális vizsgálatok és terápiás fejlesztések monogénes bőrbetegségekből” című MTA doktori értekezéséről

Dr. Nagy Nikoletta egyetemi adjunktus a Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Orvostudomány Kar Orvosi Genetikai Intézetéből adta be a doktori pályázatát. A jelölt egy hazailag és nemzetközileg is elismert bőrgyógyászati betegségek gyógyításával és kutatásával foglalkozó kutatócsoport tagja, szerteágazó klinikai és kísérletes munkát végzett.

A genetikai ismeretek bővülésével egyre több betegség kialakulásának molekuláris mechanizmusa kerül felderítésre. A korszerű molekuláris biológiai vizsgálatok elvégzésével könnyebben azonosíthatók a betegségek hátterében álló genetikai eltérések, valamint a ritka betegségek pontos diagnosztizálása is lehetővé vált.

A jelölt ritka monogénes öröklődésű bőrbetegségek esetében vizsgálta meg a genotípus-fenotípus összefüggéseket korszerű molekuláris biológiai módszereket alkalmazva. A témaválasztás aktuális, ez a terület klinikusok és a kutatók érdeklődésének középpontjában áll. Sokszor súlyos tüneteket mutatnak a betegek, amelyek heterogének, nehéz a diagnózist felállítani. A megbetegedések több szervet, szervrendszert érhetnek. Az örökletes bőrbetegségek esetében előny az, hogy a mintavétel viszonylag egyszerűen megoldható bőrbíopsziával, és a sejt- és génterápiás kezelések is könnyen megvalósíthatók.

Formai szempontok: A disszertáció jól szerkesztett, olvasmányos, a megértést ábrák és táblázatok beillesztése teszi könnyebbé. A nyelvezete jó, kevés hibát lehet találni. A disszertáció 137 oldalból áll, amely magába foglal 129 irodalmi hivatkozást.

Tartalmi szempontok:

Az, hogy a TAFOCS leírása a munkacsoporthoz fűződik, szinte minden fejezetben megtalálható (10. oldal Bevezetés; 16. oldal Célkitűzések; 38. oldal Módszerek; 84. oldal Megbeszélés; 105. oldal Összefoglalás).

A *Bevezetés, előzmények* fejezetben a disszertációban tárgyalt ritka monogénes bőrbetegségek általános jellemzőit, és a tárgyalt nyolc betegség részletes leírását találjuk meg. Ezt követi a *Célkitűzések* fejezet, amely érthetően és világosan

megfogalmazott.

3. **Betegek és módszerek** fejezetben a jelölt családfák és fényképek beiktatásával teszi szemléletesebbé a betegek bemutatását.

Általánosan elmondható, hogy ez a rész tartalmaz legtöbb hiányosságot, a módszerek nem kerülnek részletes bemutatásra.

3.2.1. Módszerek, A betegség háttérében álló kóroki gén és mutáció azonosítása, alfejezetben közli, hogy a munkacsoportjuk a betegség (TAFOCS) első leírója, valamint a családot is bemutatja megint (23. oldal ismétlése). A teljes genomot lefedő polimorfizmusok genotipizálása nem elég részletes. Ez elmondható a CPN estében is, ahol szintén a Human Mapping 10K 2.0 array került felhasználásra, de a részletes leírás hiányzik.

3.2.2. Ismert kóroki gén esetében a betegség háttérében álló novum és rekurrens mutációk azonosítása alfejezetben a polimeráz láncreakció leírásából hiányzik a kiindulási genomi DNS koncentrációja, csak az szerepel, hogy 3 mikrolitert mértek be, a primereknél szintén hiányzik a koncentráció, csak a mennyiség (2 mikroliter) kerül megadásra. A PCR termékek elválasztása elektroforézissel történt, nincs megadva az alkalmazott készülék típusa és a futtatási paraméterek (feszültség, áramerősség, futtatási idő).

3.2.5. RNS izolálás alfejezetben nem került megadásra az izoláláshoz felhasznált sejtek száma. A „pellet” helyett inkább a csapadék szót javaslom használni.

3.2.10. Immunprecipitáció és western blot analízis alfejezetben a human ubiquitin egér elsődleges ellenanyag és az alkalikus foszfatáz másodlagos ellenanyag koncentrációja hiányzik.

4. Eredmények

Ebben a részben az eredmények bemutatását táblázatokkal és ábrákkal teszi szemléletessé. Ezek segítik az eligazodást és megértést, a szerteágazó adatok bemutatásában. Említi, hogy a TAFOCS estében a 3q22-24 régió szűkítésére mikroszatellita markerek genotipizálását végezték el, ennek a leírása nem szerepelt a módszerek bemutatásában (48. oldal).

5. Megbeszélés

Ebben a fejezetben a jelölt elemzi a nyert eredményeket az irodalmi adatokkal összevetve. Itt is ábrák beiktatásával segíti az eligazodást.

6. Összefoglalás és saját megállapítások

Az 5. pontban kétszer szerepel ugyanaz a publikáció, Nagy N. et al. J Dermatol Sc. 2009;56,62-4.

8. Irodalomjegyzék

A hivatkozások egységesen mutatkoznak.

9. Publikációs lista

A 9.2. alfejezetben a 4. sorszámnál a folyóirat neve a többitől eltérően lett beírva. Az Orvosi Hetilapban szereplő cikkek angol címmel szerepelnek (9.3-ban 11., 16., 22.).

Az elért eredmények közül az alábbiakat emelem ki:

1. A TAFOCS betegséget a munkacsoport írta le elsőként, kóroki génként az *ATR* gént határozták meg.
2. Génexpressziós vizsgálataikkal igazolták, hogy az RDEB-ben detektált szomatikus mozaicizmusért a páciens keratinocitáiban kialakult egyszeri intragenikus kereszteződés állhat.
3. Kimutatták, hogy az RDEB-ben alkalmazott allogén fibroblaszt injekciók hatékonyságának hátterében a páciens saját C7 termelésének fokozódása áll, melynek maximuma az allogén fibroblaszt injekciót követő 1-3 hónappal következett be.
4. Misszensz mutációt azonosítottak az *F12* génen egy HAEIII-ban szenvedő brit család esetében.
5. SSPS-ben az irodalomból ismert, homozigóta, nonszensz mutációt azonosítottak a *WNT10A* génen.
6. A *CYLD* génen egy misszensz és két rekurrensz nonszensz mutációt azonosítottak. Igazolták, hogy ugyanazon *CYLD* mutáció eltérő klinikai variánsok – FC, MFT1 és BSS - kialakulását eredményezhetik. Továbbá potenciális fenotípus módosító genetikai faktorokat azonosítottak, melyek magyarázhatják a fenotípus diverzitást az

ugyanazon mutációt hordozó páciensekben.

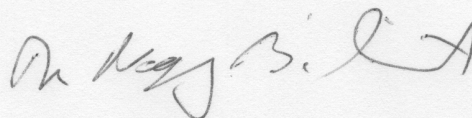
7. A *CTSC* génen egy novum deléciót és egy rekurrenz nonszensz mutációt azonosítottak, igazolták, hogy ugyanazon mutáció eltérő klinikai variánsok – PLS és HMS - kialakulását eredményezheti, továbbá potenciális fenotípus módosító genetikai faktorokat azonosítottak, melyek magyarázhatják a fenotípus diverzitást az ugyanazon mutációt hordozó betegekben.

Kérdéseim:

- A folyadék biopsziának van-e jelentősége bőrgyógyászati betegségek diagnosztizálása során, vagy a hagyományos bőrbiopszia megfelel a célra?
- A genotípus-fenotípus összefüggések esetében a nem-kódoló RNS molekuláknak milyen szerepe lehet?
- A circRNS molekuláknak lehet-e hatása a bőrgyógyászati betegségek kialakulására, mennyire befolyásolhatják a fenotípus megjelenését?
- Az exoszómákkal bejuttatható nukleinsavaknak milyen szerepe lehet a bőrgyógyászati betegek kezelésében?
- A bőrgyógyászati tumorok diagnosztizálásában van-e szerepe a szabad nukleinsavaknak?

Összegezve a jelölt kutatásai eredményei a napi klinikai gyakorlatban hasznosíthatóak. A dolgozat a jelölt saját tudományos kutatásainak eredményeire épül, a doktori művet nyilvános vitára alkalmasnak találom.

Debrecen, 2021. szeptember 28.



Dr. Nagy Bálint
egyetemi tanár
az MTA doktora